

УДК 547.9:577.1

## ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

**Е.А. Савченко, В.А. Сильченко, П.О. Дроздова**

Ингибиторы представляют собой различные вещества белковой природы. Данные вещества имеют способность блокировать протеолитическую активность некоторых ферментов. В связи с этим их называют также ингибиторами протеаз. Ингибиторы протеаз по-другому еще называют пищеварительными ферментами. В эту группу вносят такие ферменты, как  $\alpha$ -амилазы, химотрипсин, трипсин, пепсин. Источниками белковых ингибиторов могут быть животные, микроорганизмы, растения. Но предпочтение, как перспективному источнику, отдают растениям. Так, большое количество ингибиторов было найдено в различных растениях, а именно в семенах бобовых культур (таких как фасоль, соя и др.), злаковых (ячмень, пшеница и др.), картофеле и в других продуктах растительного происхождения. Ингибиторы, имеющие растительное происхождение, обладают не совсем характерными свойствами для белковых соединений. Они характеризуются достаточно высокой устойчивостью к высоким температурам [1].

Действие ингибиторов осуществляется по следующему механизму. Происходит образование фермент-ингибиторных комплексов, которые могут обладать большой стойкостью. Образование этих комплексов приводит к подавлению активности пищеварительных ферментов. Благодаря этому снижается усвоение белковых веществ и других соединений.

В связи с этим свое применение ингибиторы  $\alpha$ -амилазы нашли в сфере снижения (потери) веса и в борьбе с сахарным диабетом 2 типа. Крахмал является питательным веществом, при распаде которого образуются калории, не приносящие значительную пользу. Разрушение крахмала происходит под действием  $\alpha$ -амилазы [2]. Ингибиторы  $\alpha$ -амилазы блокируют действие фермента, в результате происходит уменьшение поглощения углеводов и крахмал не усваивается. Однако ингибиторы имеют антигипергликемическое действие, им не характерен системный эффект, а также они действуют интралюминарно. Применение сахароснижающих препаратов, имеющих способность устранять постпрандиальную гипергликемию, помогает снижать риск развития сердечнососудистых заболеваний [3].

Очень широкое применение нашло использование растительных ингибиторов в растениеводстве и селекции. Белковые ингибиторы из бобовых культур, злаковых, пасленовых и других различных растений очень тщательно продолжают исследовать. Необходимо учитывать все результаты взаимного влияния, в других случаях наложение эффектов различных ингибиторов или ингибиторов и других различных белков. При этом нельзя упускать особенности пищеварительной системы самого вредителя. Появившиеся взаимовлияния могут иметь самый разнообразный и неожиданный эффект от усиления эффективности (синергизм) до стимуляции развития фитофага. Большие усилия были направлены на создание различных форм растений семейства пасленовых, которые имеют устойчивость к ряду вредителей и болезням. Примером

является устойчивость картофеля к колорадскому жуку при использовании белковых ингибиторов и токсичных белков, оказывающих влияние на насекомых.

Ряд протеиназ различных фитофагов являются природными мишенями для ингибиторов, полученных из картофеля и других видов растений. Данное угнетающее действие разных представителей ингибиторов на патогены и вредителей уже довольно хорошо изучены. Но у насекомых также присутствует целый ряд различных механизмов, производящих ослабление защитных функций ингибиторов гидролаз из растений. Не все трансгенные растения, которым был вставлен ген ингибиторов протеиназ, имеют повышенную устойчивость к насекомым-вредителям.

Хорошую известность приобрели новые ингибиторы сериновых протеиназ и трипсина из гречихи против инфекционных заболеваний сельскохозяйственных культур, вызываемых фитопатогенами.

Значительную часть фитопатогенов, являющихся причинами инфекционных заболеваний сельскохозяйственных культур, составляют грибы. Взаимные отношения, которые образуются между грибами-патогенами и высшими растениями, довольно сложны и включают использование различных соединений химической природы со стороны растений, таких как ингибиторы, ферменты и фитоалексины, так и со стороны грибов, в основном, ферментов и токсинов. Ферменты – это один из компонентов системы, который используют грибы при нападении на растения и разрушении растительных тканей. Важную роль при инфекционном процессе, который происходит у растения-хозяина, играют внеклеточные протеолитические ферменты фитопатогенов. Однако четких и достоверных доказательств участия ферментов в патогенезе на данное время не очень много.

Ингибиторы протеиназ белковой природы широко распространены во множестве представителей высших растений. Чаще всего, основными функциями белковых ингибиторов из растений считают: прием участия в пуле запасных белков; процесс регуляции активности протеиназ эндогенного типа; процесс создания барьера защиты против воздействия насекомых-паразитов и микроорганизмов-фитопатогенов. Ингибиторы протеаз, полученные из семян высших растений, имеют способность к подавлению роста многих представителей микромикотетов.

Новые ингибиторы сериновых протеиназ из семян гречихи не действуют на эндогенные ферменты, но имеют способность подавлять активность протеиназ грибов-фитопатогенов. Один из них – анионный ингибитор трипсина, полученный из семян гречихи. Анионный ингибитор трипсина относится к одним из компонентов системы растений, которая обеспечивает защиту собственного организма. Что позволяет использовать этот ингибитор в селекции растений для получения особей, имеющих устойчивость к грибной инфекции.

Ингибиторы трипсина обладают способностью угнетать и подавлять прорастание спор, а также рост мицелия микромикотетов. Способностью угнетать рост мицелия некоторых видов грибов обладают растительные ингибиторы, действующие на сериновые протеиназы. Белковые ингибиторы протеиназ, полученные из растений, играют очень важную роль в процессах иммунитета, защищают растение от действия различных фитопатогенов [4, 5].

Нашел свое применение и модифицированный ингибитор протеиназы в селекции растений как способ борьбы с различными заболеваниями. Модифицированный ингибитор представляет собой ингибитор протеиназы на основе цистатина, который имеет делецию в положении 86 у аспарагиновой кислоты, его можно использовать в борьбе с патогенными организмами (т. е. с вредителями или паразитами). Трансформации организма-хозяина молекулой ДНК, которая кодирует ингибиторы протеиназы, дает этому организму определенную способность устойчивости к расщеплению протеиназ.

Ингибиторы, инактивирующие действие протеиназ, можно получить при использовании праймеров.

Ингибирование протеиназ патогена происходит уже после заражения организма-хозяина. Такую взаимосвязь устойчивости и способности к продуцированию ингибиторов, действующих на протеиназы, применяют при достижении положительного эффекта при борьбе с различными болезнями, которые вызывают патогенные организмы, паразиты, вредители. При борьбе с вредителями растений можно использовать растительный ингибитор протеиназы, который был рекомбинантно встроен в представителей однодольных растений (или в представителей двудольных растений). К ним относится ингибитор, действующий на трипсин, полученный из вигны китайской. Он был встроен рекомбинантным путем в такие культуры, как томат, табак, хлопок, овощные культуры, рапс, декоративные растения. Еще один способ применения ингибиторов протеиназ – в роли антипаразитарных белков. В этом случае они могут быть введены растениям-хозяевам в составе лекарства или пищи.

Ингибиторы протеиназ применяют для осуществления процесса нейтрализации действия протеиназ, т. е. для процесса борьбы с уже результирующим действием паразитов, вредителей или патогенов. Были уже получены трансгенные растения, которые в своем генетическом коде имеют последовательности, которые кодируют специфические ингибиторы протеиназ (ингибитор цистеиновой протеиназы).

Модифицированный ингибитор протеиназы в сравнении с природным аналогом, обладает более эффективной способностью ингибировать протеиназу при взаимодействии с ней (происходит более сильное связывание ингибитора с данным ферментом).

Все препараты получили применение в противостоянии с различными заболеваниями. Основным симптомом данных заболеваний является продуцирование протеиназы. В связи с этим данные белки и ДНК-последовательности, которые им соответствуют, косвенно или прямо применяются для процесса предотвращения, ослабления или облегчения болезненных состояний. При поражении вредителями, патогенами или паразитами организма-растения-хозяина симптомы облегчают путем применения одного из модифицированных белков. Лечение можно провести прямым воздействием модифицированного белка на организм-хозяин (в виде химического препарата, лекарства) или путем введения последовательности ДНК, которая кодирует этот белок, в геном растения. Последняя процедура обеспечит экспрессию модифицированного белка, растение будет иметь способность к борьбе с заболеванием.

Модифицированные ингибиторы, имеющие сайт-направленные модифицированные или гибридные белки как по отдельности, так и вместе, могут противодействовать как одной протеиназе, так и нескольким видам протеиназ [2].

Важной проблемой в рыбообрабатывающей промышленности считается повышение качества продукции за счет замедления протеолиза как при технологии производства пресервов и соленой рыбы, так и при условиях хранения сырья и в производстве рыбных фаршей.

В процессе посола неразделанных и разделанных рыб, которые характеризуются более высокой активностью протеиназ мышечной ткани и в пищеварительных органах, уменьшение скорости протеолиза можно обеспечить различными способами: разделка с последующим удалением внутренностей, заморозка изготовленной продукции, использование определенных ингибиторов, которые вызывают протеолиз. Последнему способу отдают наибольшее предпочтение (как в экономическом, так и организационном плане).

В пищевой промышленности для получения продуктов можно использовать только те ингибиторы, которые в процессе воздействия не оказывают плохого действия на организм человека. Ингибитор должен обладать определенными свойствами, а одним из них должна быть способность ингибитора производить связывание активных центров протеиназ рыб [6].

### Библиографический список

1. Нечаев, А.П. Антиалиментарные факторы питания, часть 1 / А.П. Нечаев // Пищевая химия. 4-е изд-е, перераб. и доп. М., 2007 год. URL: [http://sinref.ru/000\\_uchebniki109\\_pishevaia\\_himia\\_4izdanie\\_nechaev\\_2007/22.htm](http://sinref.ru/000_uchebniki109_pishevaia_himia_4izdanie_nechaev_2007/22.htm) (дата обращения: 22.04.2016).
2. Patent application title/ US 20140273157 A1 / Process for enhancing the amylase inhibitory efficacy from phaseolus vulgaris extracts / Robert Sarama, Gregory Arcuino. US 14/204,622/ Publication date: 2014-09-18 URL: <http://www.patentsencyclo-pedia.com/app/20140273157> (дата обращения: 18.04.2016).
3. Камынина, Л.Л. Роль и место ингибиторов альфа-амилазы в комбинированном лечении сахарного диабета 2 типа / Л.Л. Камынина / URL: <http://www.dissercat.com/content/rol-i-mesto-ingibitorov-alfa-amilazy-v-kombinirovannom-lechenii-sakharnogo-diabeta-2-tipa> (дата обращения: 11.05.2016).
4. Павлюкова, Е.Б. Анионные ингибиторы протеаз из семян гречихи: их свойства и влияние на патогенную микрофлору Е.Б. Павлюкова. URL: <http://earthpapers.net/anionnye-ingibitory-proteaz-iz-semyan-grechih-ih-svoystva-i-vliyanie-na-patogennuyu-mikrofloru> (дата обращения: 13.05.2016).
5. Белозерский, М.А. Выделение и свойства протеиназ из семян гречихи / М.А. Белозерский, И.А. Ельцева, Т.А. Курсанова // Химия протеолитических ферментов. М., 2003. С. 99.
6. Миленина, Н.И. Обоснование способа получения и применения ингибиторов протеолиза в технологии рыбных продуктов / Н.И. Миленина // Техносфера; технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств. URL: <http://tekhnosfera.com/obosnovanie-sposoba-polucheniya-i-primeneniya-ingibitorov-proteoliza-v-tehnologii-rybnyh-produktov> (дата обращения: 14.05.2016).